

トランスグルタミナーゼの神経系における役割りに ついて：神経再生の分子機序解明

著者	加藤 聖
雑誌名	平成13(2001)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	2000-2001
ページ	7p.
発行年	2002-03-01
URL	http://hdl.handle.net/2297/48231

KAKEN
2001
88
金 沢 大 学

トランスグルタミナーゼの神経系における役割りについて
—神経再生の分子機序解明—

(課題番号 12680750)

平成12年度～平成13年度科学研究補助金 (基盤研究 C2)
研究成果報告書

平成 14 年 3 月

研究代表者 加 藤 聖
教 授 (金沢大学大学院医学系研究科)

金沢大学図書印



8011-05330-2

は し が き

幹細胞の発見を機に最近の再生医学研究の発展には目を見張るものがあり、神経再生分野も例外ではない。しかしながら高次の神経機能をもつ中枢神経軸索再生にはまだまだ越えねばならないハードルが数多く存在する。他方金魚の視神経は切断されても完全に再生し視覚機能も回復する。本実験では金魚視神経再生初期に発現誘導が知られているトランスグルタミナーゼに焦点をあて、この分子のクローニング、mRNA やタンパクの局在神経再生時の動態について詳しく調べ、再生できない哺乳類のそれと比較することを目標にした。

平成14年3月

研究代表者 金沢大学大学院医学系研究科 教授
加 藤 聖

著 者 寄贈

研 究 組 織

研究代表者：加藤 聖（金沢大学大学院医学系研究科・教 授）

研究分担者：谷井秀治（金沢大学大学院医学系研究科・助教授）

研究分担者：松川 通（金沢大学大学院医学系研究科・助 手）

交付決定額（配分額）

（金額単位：千円）

	直 接 経 費	間 接 経 費	合 計
平成12年度	1,900	0	1,900
平成13年度	1,800	0	1,800
総 計	3,700	0	3,700

研 究 発 表

（1）学 会 誌 等

1. Devadas, M., Sugawara, K., Shimada, Y., Sugitani, K., Liu, Z. W., Matsukawa, T. and Kato, S. Slow recovery of goldfish retinal ganglion cells' soma size during regeneration. *Neurosci. Res.* 37 (4) 289-297, 2000
2. Tanii, H., Higashi, T., Oka, R. and Saijoh, K. Fos induction in the brain of mice exhibiting behavioral abnormalities following administration of allylnitrile or crotonitrile. *Brain Res.* 868 (1) 141-146, 2000
3. Tanii, H., Zang, X., Saito, N. and Saijoh, K. Involvement of GABA neurons in allylnitrile-induced dyskinesia. *Brain Res.* 887 (2) 454-459, 2000
4. Zhou, Z. Y., Sugawara, K., Hashi, R., Muramoto, K., Mawatari, K., Matsukawa, T., Liu, Z. W., Devadas, M. and Kato, S. Reactive oxygen species uncouple external horizontal cells in the carp retina and glutathione couples them again. *Neuroscience* 102 (4) 959-967, 2001
5. Devadas, M., Matsukawa, T., Liu, Z. W., Sugitani, K., Sugawara, K., Kaneda, M. and Kato, S. A multidisciplinary approach to investigating optic nerve regeneration in the goldfish. *In: New Insights Into Retinal Degenerative Diseases* (Eds R. E. Anderson et al.) pp. 153-161, Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2001

6. Devadas, M., Liu, Z. W., Kaneda, M., Arai, K., Matsukawa, T. and Kato, S. Changes in NADPH diaphorase expression in the fish visual system during optic nerve regeneration and retinal development. *Neurosci. Res.* 40, 359-365, 2001
7. Arai, K., Ohkuma, S., Matsukawa, T. and Kato, S. A simple estimation of peroxisomal degradation with green fluorescent protein - an application for cell cycle analysis. *FEBS Lett.* 507, 181-186, 2001
8. Oka, R., Sasagawa, T., Ninomiya, I., Miwa, K., Tanii, H. and Saijoh, K. Reduction in the local expression of complement component 6 (C6) and 7 (C7) mRNAs in oesophageal carcinoma. *Eur. J. Cancer* 37 (9) 1158-1165, 2001
9. Leng, S., Tsutsumi, M., Takase, S., Abe, S., Yamamoto, Y., Fukunaga, T., Tanii, H. and Saijoh, K. Differentially expressed genes in the nucleus accumbens from chronically ethanol-administered rat. *J. Health Science* 47 (2) 184-191, 2001
10. Liu, Z. W., Matsukawa, T., Arai, K., Devadas, M., Nakashima, H., Tanaka, M., Mawatari, K. and Kato, S. Na,K-ATPase alpha 3 subunit in the goldfish retina during optic nerve regeneration. *J. Neurochem.* 80, 1-8, 2002
11. Sugitani, K., Devadas, M., Sugawara, K., Matsukawa, T., Ishita, S. and Kato, S. The goldfish visual system as a useful model for CNS regeneration: From gene to behaviour. *Recent Res. Devel. Neurochem.*, in press

(2) 口 頭 発 表

1. Devadas, M., Matsukawa, T., Liu, Z. W., Sugitani, K., Sugawara, K. and Kato, S. A multidisciplinary approach to investigating optic nerve regeneration in the goldfish. The 9th International Symposium on Retinal Degeneration (Colorado, USA) 9-14 October (2000)
2. 杉谷加代, 菅原 清, 加藤 聖. 金魚視神経切断後のトランスグルタミナーゼ活性の変動. 第47回中部日本生理学会(金沢) 10月13日~14日(2000)
3. 加藤 聖, 松川 通, 劉 中武, 杉谷加代, DEVADAS Malini. 金魚視神経再生における細胞・分子機序. 第43回日本神経化学会(金沢) 平成12年10月18日~20日(2000)
4. 劉 中武, 松川 通, 加藤 聖. キンギョ視神経再生時の Na,K-ATPase alpha-3 サブユニットの発現増大. 第23回日本分子生物学会年会(神戸) 12月13日~16日(2000)
5. 加藤 聖, 劉 中武, 金田 学, 杉谷加代. 金魚視神経再生時の細胞分子応答. 基生研研究会「網膜の発生・分化・再生」(岡崎) 2月23日~24日(2001)

6. 加藤 聖. 神経保護・再生の基礎と展望. 第 24 回日本神経外傷学会 (高松) 3 月 29 日～30 日 (2001)
7. DEVADAS Malini. A possible role for nitric oxide in synaptogenesis. 第 78 回日本生理学会大会 (京都) 3 月 29 日～31 日 (2001)
8. 加藤 聖. 金魚視神経切断後の突起伸長及び軸索再編成について. 神経組織の成長・再生・移植研究会第 16 回学術集会 (大阪) 6 月 9 日 (2001)
9. Kato, S., Liu, Z. W. and Matsukawa, T. Increased Na,K-ATPase α -3-subunit expression during goldfish optic nerve regeneration. The 34th International Congress of Physiological Sciences (Christchurch, New Zealand) 26-31 August (2001)
10. Kato, S., Kaneda, M., Matsukawa, T., Devadas, M. and Sugitani, K. Up-regulation of molecules after optic nerve transection in the goldfish. The 34th International Congress of Physiological Sciences (Christchurch, New Zealand) 26-31 August (2001)
11. 劉 中武, 松川 通, 荒井國三, 加藤 聖. キンギョ視神経再生中 Na,K-ATPase α 3 subunit の分子クローニングおよび発現解析. 第 24 回日本神経科学・第 44 回日本神経化学合同大会 (京都) 9 月 26 日～28 日 (2001)
12. 荒井國三, 金田 学, 杉谷加代, 松川 通, 菅原 清, 加藤 聖. 金魚視神経再生の分子機構. 第 24 回日本神経科学・第 44 回日本神経化学合同大会 (京都) 9 月 26 日～28 日 (2001)
13. 田中聖之, 滝沢 昇, 加藤 聖, 島田洋一. ラット欠神てんかんの発達脳における脳波, 転写因子活性の変容. 第 24 回日本神経科学・第 44 回日本神経化学合同大会 (京都) 9 月 26 日～28 日 (2001)
14. 星野伸一, 長坂康弘, 加藤 聖, 横山 修, 並木幹夫, 島田洋一. ラットの排尿調節系における中枢神経活動記録と排尿反射機構のシステム解析. 平成 13 年度電気関係学会北陸支部連合大会 (富山) 10 月 13 日～14 日 (2001)
15. 島崎克仁, 村本健一郎, 加藤 聖. 網膜節細胞の測定とインパルス定量化解析. 平成 13 年度電気関係学会北陸支部連合大会 (富山) 10 月 13 日～14 日 (2001)
16. 加藤 聖, 荒井國三. 金魚視神経再生の分子機構. 第 48 回中部日本生理学会 (名古屋) 10 月 19 日～20 日 (2001)
17. 松川 通, 佐々木由佳, 馬渡一浩, 荒井國三, 加藤 聖. キンギョ視神経切断後レチノール結合タンパク質類似タンパク質 mRNA が網膜で増加した. 第 24 回日本分子生物学会年会 (横浜) 12 月 9 日～12 日 (2001)
18. 田中聖之, 滝沢 昇, 加藤 聖, 島田洋一. 発達期における γ -butyrolactone 誘発ラット欠神てんかん. 第 79 回日本生理学会大会 (広島) 3 月 28 日～30 日 (2002)

19. 菅原 清, 中川貴志, 村本健一郎, 杉谷加代, 加藤 聖. ゼブラフィッシュ視神経切断後の軸索再生と遊泳行動にみる視覚機能の修復. 第 79 回日本生理学会大会 (広島) 3 月 28 日～30 日 (2002)
20. 星野伸一, 長坂康弘, 島田洋一, 加藤 聖, 横山 修, 並木幹夫. ラットの排尿調節系における中枢神経活動記録と排尿反射機構のシステム解析. 第 79 回日本生理学会大会 (広島) 3 月 28 日～30 日 (2002)

研 究 成 果

神経再生時に誘導のかかる酵素の一つにトランスグルタミナーゼ (TG) がある。TG はタンパク質架橋酵素であり上皮細胞型、組織型、神経型等が知られている。しかし本酵素の神経系における役割や細胞局在に関しては不明なことが多い。特に中枢神経系の軸索再生時については殆ど報告がない。そこで我々は金魚視神経を神経再生のモデルとして TG の役割を検索した。まず、金魚網膜 TGcDNA をクローニングし全塩基配列を決定した。更にこの cDNA を大腸菌 DNA に挿入し TG の融合タンパク (分子量約 75kD) を作製し活性のあるリコンビナント TG タンパクを入手した。次いでウサギにリコンビナント TG タンパクを注射し、抗 TG 抗体を作製した。この抗体や mRNA(cDNA)をプローブとして視神経切断後の網膜を経時的に免疫組織化学や in situ ハイブリ法で比較検討した。その結果、視神経切断後 TG 発現が 5~10 日から有意に上昇し、20~30 日でピークとなりその後 50~60 日で正常に復した。この発現上昇の局在は網膜神経節細胞に局限していた。金魚の視神経線維の再生は切断 7~10 日位から開始されるので、この時期と一致する。TG の誘導は金魚の視神経再生線維の伸長に何らかの役割を演じていると考えられる。更に抗血清を精製し TG の中和抗体による再生伸長の抑制の実験を試みたところ、成熟網膜培養系において網膜片からの神経突起の伸長をこの TG 抗体が濃度依存的に抑制したことより、TG の神経突起伸長作用がより明瞭に証明された。現在その内在性の基質を探索しているところである。